

3. ウイルス第三部

部長 竹田 誠

概要

当部は、村山庁舎に配置され、第1室（麻疹）、第2室（風疹）、第3室（ムンプス）、第4室（インフルエンザ以外の呼吸器ウイルス感染症およびサイトカイン）で構成される。業務は、ワクチン製剤の品質管理及び関連する研究、当該疾患の病原・病因・予防・診断・治療法等に関する研究、レファレンス業務及び国際協力である。

人事異動では、平成24年4月1日付で、加藤篤（第3室）室長が、放射能管理室長（品質保証室長併任）に異動（昇格）した。平成24年10月1日付で、木所稔（第3室）主任研究官が（第3室）室長に昇格した。平成25年3月31日付で、荻野利夫研究員（インフルエンザ以外の呼吸器ウイルス感染症およびサイトカイン室）が退職した。

当部は、麻疹、風疹、おたふくかぜ（ムンプス）の各ワクチン、 γ -グロブリン製剤に関する国家検定、検査、研究業務、インターフェロン製剤については収去検査を担当している。品質管理体制に関しては、ワクチン国家検定のSOPや標準品の整備等を進め、GMPを中心とする品質管理体制と、国際協調の観点から国際的にも通用する品質管理法を導入するための対策に取り組んでいる。平成24年10月1日には、薬事法施行規則の一部を改正する省令等によって、ワクチン製剤の国家検定に製造・記録等要約書の審査が導入された。感染症対策やワクチン政策に対する社会的要求が一層高まる中で、ワクチン製剤の安全性と有効性の確保とNational Control Laboratoryとしての責任を果たすために、限られた人員と予算の中で、国民や社会の要望に応えるべく努力を続けている。

研究活動では、麻疹・風疹に関しては、全国的ならびに国際的検査診断ネットワーク体制の構築に関する研究、正確な実験室診断技術の開発研究を進めるとともに、ワクチン効果の維持にとって重要な知見となる麻疹ウイルスの抗原性決定基盤に関する研究、臓器移植等により免疫抑制状態にある患者へのワクチン接種の有効性や安全性に関する研究、麻疹ウイルスのベクターとしての応用研究を進めてい

る。また、新たなワクチン開発に関する研究、先端技術を用いた麻疹ウイルスの細胞内病態に関する研究を行っている。犬ジステンパーウイルス（CDV）は、麻疹ウイルスの近縁ウイルスであり、近年、サルに致死性のアウトブレイクを起こすことが問題になっている。そのため、CDVのヒトに対する危険性についての研究を実施している。風疹に関しては、風疹の病原診断に関する基幹技術の開発、流行株の変遷に関する研究、弱毒生ワクチンの性質決定の分子基盤を明らかにするための研究、麻疹ワクチンと同じく臓器移植等により免疫抑制状態にある患者へのワクチン接種の有効性や安全性に関する研究を行っている。さらに風疹ウイルス増殖の詳細な細胞内分子機構の解析を行い、そのことを通じて風疹ウイルスの増殖を抑える治療法の開発を目指している。ムンプス（おたふく風邪）に関しては、ムンプスウイルスの遺伝子操作手法の開発や改良に関する研究、神経病原性の分子メカニズムに関する研究、ワクチンの弱毒機構に関する研究を実施している。また、国内、海外の流行株の解析などを実施し、国際的にも貢献するとともに、ムンプスウイルスのさらなる流行実態の解明に努力している。インターフェロン・サイトカインに関しては、宿主側の新たな制御機構を研究するとともに、ウイルス側による阻害機構を明らかにするための研究を行い、感染症を包括的に理解し、また、新しい生命現象の解明を通じて広く人類に貢献することを目指している。急性呼吸器ウイルスに関しては、中東呼吸器症候群（MERS）コロナウイルス、SARSコロナウイルスの病態や診断法に関する研究、その他のヒトコロナウイルスの抗原性や増殖機構に関する研究を行っている。コロナウイルスの他にも、RSウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス、ヒトメタニューモウイルスの増殖機構や病態解明に関する研究を行い、その知見をもとにした抗ウイルス剤開発を目指している。

国際協力では、WHO 世界麻疹風疹実験室ネットワーク（Global Measles and Rubella Laboratory Network）の

Global Specialized Laboratory (GSL)、ならびに WHO 西太平洋地域 の Regional Reference Laboratory (RRL) として、麻疹ならびに風疹の診断や流行調査に資するための研究を遂行し、また、ムンプスウイルスなどに関しても周辺諸国（中国ならびにモンゴル）の診断技術の向上のための研究協力を実施している。また、JICA の依頼に応じてアジア、アフリカ、中国等からの研修生に麻疹や風疹の診断に関する実習や講義、研修等を実施している。

業績

調査・研究

調査・研究

I. 麻疹ウイルスに関する研究

1. 麻疹検査診断ネットワークの構築に関する研究

日本が所属する WHO 西太平洋地域では可能な限り早く麻疹排除を達成し、かつ 2015 年までに風疹を人口 100 万人当たり 10 人未満、CRS を 100 万出生数当たり 10 人未満まで制御する事を目指している。麻疹排除の定義は、質の高いサーベイランス体制の下で「常在する麻疹ウイルスによる麻疹の伝播が 1 年間以上ないこと」としている。質の高いサーベイランス体制には精度管理された施設において 80%以上の麻疹疑い症例検体が検査診断される事が求められている。また、麻疹ウイルスのゲノム解析により、原因ウイルスが国外に由来するのか常在のウイルスによるのかを鑑別していく必要がある。2007 年以降、地方衛生研究所を中心とした RT-PCR 法による麻疹検査体制の整備を進めてきた。昨年度は麻疹検査診断例の約 30%で麻疹ウイルスの遺伝子型解析がなされた。検出された遺伝子型は海外から侵入したと考えられる D4、D9、D8、H1 であり、日本の常在株と考えられている遺伝子型 D5 は検出されず、2011 年以降、常在性麻疹ウイルスによる麻疹の伝播は遮断されていると考えられた。一方、感度が高い PCR 法による検査を実施する上で、陽性対照によるクロスコンタミを減らすために、増幅によるサイズが異なる組換え陽性対照 RNA を作製し、全地衛研に配布した。今後も検査診断数の増加、並びに検査精度の向上を目指した検査診断体制を検討していく。[駒瀬勝啓、染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、竹田誠、麻疹、風疹レファレンスセンター、地方衛生研究所]

2. 小児臓器移植児に対するワクチン接種の安全性と有効性に関する研究

生体肝、腎移植児は継続的に免疫抑制剤を服用するため、感染症に対する免疫応答が減弱している。そのため、これら小児への感染症対策として、ワクチン接種による防御免疫能を誘導することが必要と考えられているが、現在までのところ、これら患者へのワクチン接種による免疫応答の機序が明らかになっておらず、ワクチン接種スケジュール等のガイドラインは確立されていない。本研究では、生体肝、腎移植児へのワクチン接種の有効性の確認とガイドラインの作成のため、麻疹含有ワクチンを接種した小児患者の細胞性免疫応答について、IFN- γ ELISPOT 法を用いて解析を進めている。これまでに 246 検体について解析を行い、うち、61 検体から IFN- γ の産生が確認できた。今後は、本試験成績と共同研究者が解析している諸データと合わせた解析を行い、細胞性免疫の面からワクチンの有効性を評価する予定である。[染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、駒瀬勝啓、竹田誠、宮田一平、宮入烈、福田誠：生育医療センター、斉藤昭彦：新潟大学医学部小児科]

3. 麻疹ウイルスワクチン株 AIK-C をベースとした組換え HIV ワクチンの開発に関する研究

弱毒化生ワクチンの開発が容易ではないある種の感染症に対しては、様々なタイプの遺伝子組換え技術を用いた細菌ワクチン、ウイルスワクチンが研究されている。麻疹ウイルスをベクターとした組換えワクチンに関する研究も、インフルエンザ、SARS、マラリア、B 型肝炎、RSV など、の感染症について報告されている。本研究では、本邦で使用されている麻しんワクチン株、AIK-C を用いた組換え生ワクチンの開発を進めている。現在、ホ乳類細胞内で効率よく発現できるようにコドンを変更した HIV および SIV の gag、env 遺伝子をそれぞれ単独、または組み合わせた組換え麻疹ウイルスの回収を試みている。現段階では、HIV env 遺伝子を発現している組換え麻疹ウイルスを作出できたので、今後、その免疫原生、細胞指向性等の性状を解析していく。[染谷健二、關文緒、中津祐一郎、田原舞乃、酒井宏治、駒瀬勝啓、竹田誠]

4. モルビリウイルスにおける Nectin4 分子利用能に関する研究

Nectin4 は、極性を持つ細胞に形成される接着結合部位に存在する分子であり、麻疹ウイルス感染における上皮細胞への感染に利用されている。このことについて理解を深める目的で同じモルビリウイルスに属するイヌジステンパーウイルス（以下 CDV）について解析を行った。Vero 細胞にイヌ Nectin4 分子を発現させた Vero/dNectin4 細胞を樹立し、CDV を感染させたところ、用いた CDV 株の全てで合胞体の形成が認められた。この合胞体の形成は抗 Nectin4 抗体で阻止することができた。また、Nectin4 分子の利用能の解析に用いる目的で他にヒト Nectin4 を発現する Vero 細胞（Vero/hNectin4）およびマカカ属のサル由来の Nectin4 を発現する Vero 細胞（Vero/mNectin4）を樹立した。また、麻疹ウイルスワクチン株はニワトリ胚由来繊維芽細胞（CEF）で増殖することから、ニワトリ Nectin4 分子の関与が考えられる。現在、ニワトリ Nectin4 のクローニングを試みている。[關 文緒、酒井宏治、駒瀬勝啓、Watanyoo Pratakpiriya*、山口良二*、竹田誠：*宮崎大学獣医学科]

5. 麻疹ウイルス L タンパク質の細胞内動態の解析

麻疹ウイルスは宿主細胞内に侵入した後、細胞質内でウイルスゲノム RNA および構造タンパク質の新規合成を行う。それらのウイルス粒子構成要素が細胞膜付近で集合することで、子孫ウイルス粒子を形成すると考えられるが、その詳細な機序は明らかになっていない。麻疹ウイルスタンパク質の細胞内動態をより詳細に解析するために、リバースジェネティクス法によりこれまでに作製した、蛍光タンパク質を融合させた L タンパク質を発現する組換え麻疹ウイルスを用いた。これらの組換えウイルスを細胞に感染させた後、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察を行い、感染細胞内での各タンパク質の動的な変化を解析したところ、L タンパク質がリサイクリングエンドソームのマーカーである Rab11 と共に細胞内輸送される事が明らかとなった。また、Rab11 のドミナントネガティブ体を細胞に発現させると、L タンパク質の局在が変化し、細胞表面からの子孫ウイルス粒子の出芽が阻害されることが明らかになった。[中

津祐一郎、馬学旻、關文緒、鈴木忠樹*、駒瀬勝啓、竹田誠：
*感染病理部]

6. iPS 作製用麻疹ウイルスベクターの開発

iPS 細胞は複数の転写因子（Klf4, Oct3, c-Myc, Sox2 など）を同時に繊維芽細胞に導入する事で誘導される。導入方法はレトロウイルスベクターやプラスミドが用いられるが、DNA 性の因子を使う限り、宿主ゲノムへの外来性 DNA の挿入の可能性が排除できないことが問題となっている。そこで RNA ウイルスである麻疹ウイルスを用いたベクター開発を試みている。以前報告したウイルスゲノムの分節化の技術、及び F 遺伝子を欠損させる技術を用いて、1、宿主ゲノムに影響しない、2、伝播能力のない、3、細胞障害性の少ない、4、複数の外来遺伝子搭載が可能、な理想的なベクターが開発可能であると考えている。麻疹ウイルスを 2 分節化し、一方の分節に麻疹ウイルス（N, P, M）遺伝子と転写因子（Klf4, Oct3, Glis1）、もう一方の分節にウイルス遺伝子（H, L）と転写因子（Sox2, Pin1）と蛍光タンパク質 EFPF を導入した組換えウイルスの作製に成功した。感染細胞にすべての外来遺伝子の発現を確認したが、iPS 細胞作製には至っていない。[田原舞乃、三浦由恵*、谷憲三朗*、竹田誠、*九州大学生体防御医学研究所ゲノム病態学]

7. サルから分離された犬ジステンパーウイルスのヒト受容体利用能獲得に必要な変異

カニクイザルのコロニーにおいて肺炎、消化器症状等を主徴とする致死感染症が発生し、イヌジステンパーウイルス（CDV）が分離された（CYN07-dV 株）。CYN07-dV 株はヒト SLAM を効率よく利用することが出来なかったが、容易にヒト SLAM に馴化した（CYN07-hV 株）。ブラッククローニングにより得られたヒト SLAM 馴化クローンについては、塩基配列の決定及び、イヌ、ヒト、サルの SLAM 発現 Vero 細胞、Nectin4 発現 Vero 細胞を用いた性状解析を実施した。また、得られたヒト SLAM 馴化に関連した変異を、野生型 CDV イヌ分離株の H 蛋白質に変異導入して、Fusion assay を行いサル分離株同様にイヌ分離株もヒト SLAM 利用能を獲得できるか、を解析した。ヒト SLAM への馴化に伴う 3 つの変異（H 蛋白質の P541S、D540G、R519S 変異）パターンが認められた。これらクローンはいずれも、親株である CYN07-dV 株の

性状を有しつつ、さらにヒトSLAMも利用できるようになっていた。興味深いことに、P541Sを野生型CDVイヌ分離株(MAS5株及びAc96I株)のH蛋白質に変異導入すると、ヒトSLAMが使えないばかりか、イヌSLAMやサルSLAMの利用能が低下した。したがって、この変異はサル分離株であるCYN07-dV株に独特なヒトSLAM利用能獲得機序であると考えられた。[酒井宏治、關文緒、田原舞乃、染谷健二、中津祐一郎、大槻紀之、藤井薫、駒瀬勝啓、竹田誠、西條政幸*、森川茂**、網康至***、山口良二****:*ウイルス第一部、**獣医学部、***動物管理室、****宮崎大学獣医病理学研究室]

8. 野生型犬ジステンパーウイルスイヌ分離株の霊長類受容体利用能の解析

イヌから分離された野生型犬ジステンパーウイルス(CDV)、9株をイヌ、ヒト、サル(マカク属)のSLAM発現Vero細胞、Nectin4発現Vero細胞に感染させ性状解析を実施した。SLAMに関しては、用いた全てのイヌ分離CDVはサルSLAMを利用することはできたが、イヌSLAMほど効率的に利用できなかった。一方、これらはヒトSLAMを効率よく利用することは出来なかった、もしくはほとんど利用することはできなかった。Nectin4に関しては、イヌ、ヒト、サルNectin4の全てを同程度に利用できた。興味深いことに、用いたいくつかの株において、容易にヒトSLAMへの馴化が認められた。以上より、野生型CDVイヌ分離株は、サルSLAMとサルNectin4両方の受容体を元来利用することが出来るため、特に実験用ならびに展示用のサルにおいては、麻疹ウイルス同様にCDVにも注意する必要があると考えられた。また、野生型CDVイヌ分離株のヒトへの感染の可能性についても、今後詳細に検討する必要がある。[酒井宏治、關文緒、田原舞乃、染谷健二、中津祐一郎、大槻紀之、藤井薫、駒瀬勝啓、竹田誠、網康至*、山口良二**:*動物管理室、**宮崎大学獣医病理学研究室]

9. IFIT 遺伝子ノックアウトマウスにおけるセンダイウイルス感受性に関する研究

IFIT 遺伝子(IFIT1、IFIT2、IFIT3、IFIT1b、IFIT1c、IFIT3b)はmRNAのcap構造の違いを認識して自然免疫を賦活化する遺伝子である。この遺伝子のうち *in vitro* の解析でウイル

ス感染に影響が認められた IFIT1 遺伝子の有無が、センダイウイルス感染のマウス生体内における感受性に影響を与えるか否かを検討した。センダイウイルス感染後の WT 群と KO 群の体重変動に有意な差は認められなかった。また、WT 群と KO 群の生存率は同程度であったが、致死が認められるまでの時間は WT に比べ KO の方が短い傾向が認められた。しかし、IFIT1 遺伝子単独では、*in vivo* でのウイルス感染に顕著な影響は認められないと考えられた。今後、IFIT2、IFIT3、IFIT1b、IFIT1c、IFIT3b 遺伝子についても解析を行い、IFIT 遺伝子がウイルス感染における影響を明らかにする。[酒井宏治、中津祐一郎、關文緒、田原舞乃、染谷健二、藤井薫、駒瀬勝啓、竹田誠、網康至*、喜村大志**、竹田潔**:*動物管理室、**大阪大学医学部免疫制御学教室]

II. 風疹ウイルスに関する研究

1. 風疹ウイルスワクチン株の温度感受性とモルモットにおける抗体誘導能の関連性に関する研究

日本で承認されている風疹ワクチン株5株は、高温(39℃)で増殖できず(増殖温度感受性を有する)、モルモットへの皮下接種において抗体産生を誘導しない、という特徴があるが、両者の直接的な関連性は明らかになっていない。後者の現象を利用して、生物学的製剤基準に風しんワクチンのマーカー試験が定められ、ワクチン製造時の試験および国家検定として実施されている。そこで T0-336 Vaccine 株とその親株の T0-336.GMK5 株の感染性クローンをを用いて増殖温度感受性およびモルモットにおける抗体産生誘導能に関連した遺伝子を同定することで、両者の関係性を明らかにすることを目的に実験を行った。その結果、T0-336 Vaccine 株の増殖温度感受性は非構造タンパク質領域の1159番目のアミノ酸によってほぼ決定されていることが示された。モルモット皮下接種における抗体産生はウイルスの増殖温度感受性と相関していた。[岡本貴世子、大槻紀之、坂田真史、竹田誠、森嘉生]

2. 風疹ウイルス遺伝子検出 RT-LAMP 法の検討

すべての遺伝子型の風疹ウイルス遺伝子の特異的に検出でき、臨床検査に使用可能な RT-LAMP 法の確立を目指し、検討をおこなっている。昨年までに非構造蛋白質コード領域の5'末端側を増幅する RT-LAMP 法を構築できた。そこ

で、今年度はすべての遺伝子型の風疹ウイルスについての検出感度を、既報の Real-time RT-PCR と比較を行った。その結果、RT-LAMP 法では遺伝子型 2C ウイルスのみ感度よく検出できなかったが、この遺伝子型ウイルスは現在出現していないウイルスであるため、大きな問題はないと考えられる。Real-time RT-PCR 法との比較では RT-LAMP 法では感度が悪いことがわかった。しかしながら、高度な設備の整っていない施設等では簡易な試験として実施可能であると考えられる。[岡本貴世子、阿保均、安楽正輝、倉田貴子*、加瀬哲男*、大槻紀之、坂田真史、駒瀬勝啓、竹田誠、森嘉生：*大阪府立公衆衛生研究所]。

3. 小児臓器移植前後におけるワクチン接種の安全性と有効性に関する研究

生体肝移植児に対して推奨されるワクチンスケジュールおよび防御免疫能に関する研究データは殆どない。本研究ではこのような児に対して効果的で安全なワクチン接種を行うための基礎的データを収集することを目的とし、風疹に対する細胞性免疫機能の評価を移植前後の患者について評価できるように ELISPOT 法の至適条件を整備し、移植児の検体を測定した。これまでに 139 の小児肝移植患者検体を測定したところ、陰性は 126 検体、陽性は 6 検体、細胞数が少なく測定不可能と考えられたものが 1 検体であった。一方、陰性と判定された検体の中には、ネガティブコントロールで、比較的多数のスポット (7-30 スポット) が出現したものが 6 検体存在した。また、陰性検体には、風疹ワクチン接種後 2 ヶ月の患者検体が少なくとも 3 検体含まれていた。この結果より、検体由来患者の年齢、健康状態によって細胞性免疫の反応性が異なる可能性が示唆された。

[岡本貴世子、竹田誠、齊藤昭彦*：*国立生育医療センター]

4. 風疹ウイルスの capsid 蛋白質と p150 蛋白質の相互作用に関する解析

風疹ウイルスの構造蛋白質 capsid と非構造蛋白質 p150 は感染細胞内で共局在するが、その生物学的意義は不明である。これまでに我々は capsid 蛋白質の N 末端領域が、coiled-coil 構造をとる可能性を示唆し、その構造に重要と考えられる疎水性アミノ酸が非構造蛋白質 p150 と

の結合に非常に重要であることを示してきた。今年度は相互結合がウイルスの増殖性に関与するかを、同定したアミノ酸への変異を感染性クローンに導入することで、検討をおこなった。その結果、capsid タンパク質と p150 タンパク質の結合が失われるようなアミノ酸変異を導入した場合にウイルス増殖性の著しい減少が認められた。ウイルス増殖性の減少の原因としては、ウイルス粒子内へのゲノム取り込みの低下が一部関与していたが、それだけでは完全に説明をすることは出来ず、今後の検討が必要であると考えられた。「坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、竹田誠、森嘉生」

5. 風疹ウイルス感受性細胞の検討

風疹ウイルスはヒトを自然宿主とするウイルスでありながら、多くのヒト由来の培養細胞に対して感染性が低いことが知られている。感受性の高いウサギ由来 RK-13 細胞、アフリカモドリザル由来 Vero 細胞およびハムスター由来 BHK 細胞と同程度の感受性を持つヒト細胞の探索を行った。加えて上記 3 細胞についてもどの細胞が最も感受性が高いか検討した。蛍光発現風疹ウイルスを接種し、蛍光の発現によって感受性を検討したところ、RK-13 細胞、Vero 細胞、BHK 細胞の順で感受性が高かった。15 種のヒト培養細胞について検討したところ、胎盤絨毛由来培養細胞 3 株において BHK 細胞程度の感受性を示すことが明らかとなった。「安楽正輝、森嘉生、坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、竹田誠」

6. 風疹ウイルス p150 蛋白質のアクチンとの相互作用に関する解析

風疹ウイルスの非構造蛋白質 p150 はウイルスゲノム複製に関与する。一方で感染後期においては、その多くが感染細胞内でゲノム複製に直接関与しないと考えられるフィラメント状構造体として存在する。このフィラメント状構造体には、細胞の形態、運動、増殖等に重要なアクチンが共局在していることが示されている。しかしながら、この共局在のウイルス増殖および病態への関与は不明のままである。本研究ではその生物学的意義を明らかにするため、アクチンとの共局在に重要な p150 のアミノ酸の同定と、そこに変異を導入した風疹ウイルスの性状解析を行った。こ

の共局在には、1301 アミノ酸残基からなる p150 の N 末 551 アミノ酸領域が必要であった。さらに 547 位のアスパラギン酸をアラニンに置換した p150 は、フィラメント状構造体が正常に形成されるものの、F-アクチンとの共局在が認められなくなった。この変異を導入した風疹ウイルスは野生型ウイルスと比較して増殖性が低下していることが明らかとなった。p150 と F-アクチンは細胞内で非常に安定した複合体を形成し、効率的なウイルス増殖に重要であることが示唆された。今後さらにそのメカニズムについて詳細を検討していく予定である。[森嘉生、坂田真史、安楽正輝、岡本貴世子、大槻紀之、竹田誠]

III. ムンプスウイルスに関する研究

1. 授乳婦に対するムンプスワクチン接種後の母乳におけるワクチンウイルスの検出

授乳婦に対する予防接種は敬遠される傾向にある一方、ワクチンの添付文書には、授乳婦に対する接種は禁忌ではなく、接種すべきか明確ではない。そこで、ムンプス IgG 陰性の授乳婦に対するワクチン接種例を経験したので、母乳と児の唾液からの継続的なワクチンウイルスゲノムの検出を試みた。ワクチン（タケダ、G302）接種後から本人への説明・同意の元に母乳と児の唾液の採取を開始した。母乳は接種後 15、22、29、42、49 日で、児の唾液は 42、49 日の 2 ポイントで採取した。Mumps virus 検出は RT-LAMP 法ならびに RT-PCR 法にて行った。その結果、母乳では接種後 29 日と 42 日でゲノムが検出されたが、児の唾液からは検出されなかった。検出されたゲノムの塩基配列はワクチン株に一致した。授乳は検出後も継続されたが、児は無症状で経過した。CDC ガイドラインによれば、授乳中の女性への授乳はいかなるワクチン接種も禁忌にはならないとしている（天然痘ワクチンを除く）。ワクチンの安全な運用を図る上で、こうしたデータの蓄積は重要である。[木所 稔 *新妻隆広：*越谷市立病院小児科]

2. リバースジェネティクスによって作製したムンプスウイルスの病原性復帰に関する研究

強毒株 Y213 由来 cDNA から作製したにもかかわらず高度に弱毒化していた組換えウイルス rY213 は、変異原処理（リバビリン存在下での継代）によって病原性復帰した。この

病原復帰は P 遺伝子と L 遺伝子内の 1 ヶ所ずつアミノ酸置換によることが、これらの変異を rY213 に導入した組換えウイルスの病原性が復帰することで証明された。そこで、これらの変異がどのような機構で病原復帰に関わるかを調べるために、それぞれの変異を導入した P 遺伝子と L 遺伝子のヘルパープラスミドを作製し、ルシフェラーゼを組み込んだミニレプリコンによるレポーター解析を行った。細胞は 293T、BHK/T7、A549、SK-N-SH 細胞について検討した。その結果、予想に反して変異を導入した P 遺伝子と L 遺伝子のいずれか、もしくは両方を導入した細胞においては野生型に比べて、ルシフェラーゼ活性が低下していた。ミニレプリコンによるレポーターアッセイは必ずしもウイルス増殖における現象を反映しない場合があることが知られており、これらの結果をそのまま当てはめることはできない。しかし、例えば 2 ヶ所の変異によってウイルスの複製効率が下がり 2 本鎖 RNA 量が減少することによって宿主の RNA センサーから逃れられることが結果としてウイルスの病原性を高める可能性が有るのかもしれない。[木所稔、齋加志津子*、網康至**、須崎百合子**、竹田 誠：*千葉県衛生研究所、**動物管理室]

3. 日本国内で流行するムンプスウイルスの分子系統学的解析および抗原性に関する研究

国内で流行するムンプスウイルスの経時的な分子系統学的解析は、疫学上もワクチン対策においても重要である。我々は昨年引き続き 2012 年に三重病院で分離された 20 株に加え、2006 年から 2012 年に水島中央病院（岡山県）において分離された分離ウイルス 16 株について分子系統学的解析を行い、流行株の経年変化について解析を行った。また、国内で流行する様々な遺伝子型に対して現行のワクチンが有効であることを確認するため、ウサギ高度免疫血清を用いて国内で流行した遺伝子型（B, I, J, L, H, G）に対する中和曲線から、その抗原性についても解析を行った。

2012 年の三重県内における流行株はそれ以前同様 G 型のみであった。岡山県においても、三重県同様、2006 年以降の流行は G 型のみであり、東日本における分離例を含めると、G 型の流行は全国的な規模で現在まで継続していることが示唆された。1999 年以降流行している G 型は大きく 2 つのクレードに分かれることが分かっているが、依頼検査

等の結果から、一方 (Ge 型) は首都圏を含む東日本に多く、他方 (Gw 型) は三重県と岡山県で主流を占めることが明らかとなった。また、Ge と Gw は年によって流行する主流が一方から他方へと入れ替わり、2010 年においてのみ三重県内で Ge 型が半数以上を占めた。また、首都圏の分離例からも Gw が認められ、全国的にこれら 2 つのクレードが並行して流行している実態が示唆された。

抗 A 型 (Endars 株) 高度免疫血清と国産ワクチン株星野株 (遺伝子型 B) に対する高度免疫血清を用いた中和曲線の解析から、A 型で誘導される中和抗体の中和活性はより遺伝子型の影響を受けやすく L と H が最も中和されにくいことが判明した。一方、抗 B 型血清では遺伝子型による中和活性の差が小さく H を除く遺伝子型は効率よく中和された。[木所稔、庵原俊昭*、中山哲夫**、名木田章***、竹田 誠:*国立病院機構三重病院**北里生命科学研究所***水島中央病院]

4. ムンプスウイルスのリバースジェネティクス法の改良に関する研究

ムンプスウイルスの病原性発現の分子的基盤を解明する上で、ウイルスの組み換え技術であるリバースジェネティクス法は不可欠である。しかし、我々が構築したリバースジェネティクス法の効率は決して高いとは言えず、コンストラクトによっては全く組換えウイルスが回収できない場合がある。これは実験を効率良く進める上で、大きな障害である。そこで、回収効率に大きく関わる cDNA からの RNA 効率を向上させる試みとして、ミニレプリコンを用いて以下の試みを行った。1) T7 プロモーターより転写効率の高い SP6 プロモーターを用いる。2) T7 プロモーターの転写効率を高めるために転写開始点に 3G 配列を付加する。

1) の試みでは SP6 プロモーターが挿入されたミニレプリコンは大腸菌に致死性であるために、コンストラクトが取れず、取れてきたものには必ず変異が挿入されていた。そのうちの 1 つについて従来の T7 プロモーター型のミニレプリコンとの比較を行ったが、レポーター活性は従来型の 1/2 以下であった。2) についてはミニレプリコンの発現効率従来型の 1/4 にとどまった。[木所稔]

VI. インターフェロン、サイトカインに関する研究

1. I 型インターフェロン産生制御に関わる翻訳後修飾機構
ムンプスウイルスを含む、マイナス鎖 RNA をゲノムにもつウイルスの感染は、Toll 様受容体ファミリーあるいは、RIG-I/MDA5 などの RNA ヘリカーゼモチーフを持つ分子によって、宿主細胞に認識され、I 型インターフェロンを含む種々のサイトカイン産生を誘導する。このようなサイトカイン産生を制御する宿主転写因子及び情報伝達因子のタンパク質翻訳後修飾系について検討を行った。この結果、ユビキチン様修飾因子 SUMO による修飾が I 型インターフェロン産生制御に関与することが明らかとなった。[久保田耐、加藤篤、竹田誠、久保田真由美*、張賢聡**、尾里啓子** : *細菌第 2 部、**米国 NIH]

V. 急性呼吸器ウイルス感染症に関する研究

1. 中東呼吸器症候群(MERS) コロナウイルスの国内検査環境の整備

平成 24 年 9 月に見つかった MERS コロナウイルスは、重症肺炎を引き起こす致死率 50% 以上の病原体である。感染経路が不明であることや、不顕性感染の人も見られること、さらにヨーロッパ、アフリカの中東への旅行者に感染したことから、日本への侵入が懸念されている。厚生労働省からの指示を受けて、本研究室ではリアルタイム PCR による遺伝子診断法を開発し、プライマーとプローブを国内の衛生研究所と保健所、計 72 箇所 に配布した。さらに現在、LAMP 法、血清診断法の開発をおこなっている。さらに報道への対応、医学雑誌への執筆を通して、国民への適切な情報の説明に務めている。

2. 中東呼吸器症候群(MERS) コロナウイルスの細胞侵入機構について

肺に特異的に存在する膜貫通型セリンプロテアーゼ (TMPRSS2) の発現細胞に、コロナウイルスは極めて効率よく感染する。TMPRSS2 発現 Vero 細胞 (Vero-TMPRSS2) では非発現 Vero 細胞と比べて 100 倍 MERS コロナウイルスに対する感染効率がよく、さらに、非常に大きい細胞融合を形成することがわかった。この細胞はコロナウイルスの分離に有用であるといえる。さらに MERS コロナウイルスの細胞侵入をリアルタイム PCR による方法にて検出し、TMPRSS2 の阻害剤セリンプロテアーゼ阻害剤 (Camostat) による感染阻止効果を調べた。MERS コロナウイルスの TMPRSS2 発現

細胞への感染価は非発現細胞と比較して、10倍高くなっていた。この結果は TMPRSS2 が ウイルスを活性化し細胞侵入を促進させることを示唆している。また Camostat は肺胞上皮由来の Calu-3 細胞においてより効率良くウイルスの細胞侵入を阻害できることを明らかにした。[白戸憲也、川瀬みゆき、松山州徳]

3. 2004 年および 2008 年に分離されたヒトコロナウイルス (HCoV) 229E の国内分離株と ATCC 株との間の抗原性の違いについて

ヒトコロナウイルス 229E (HCoV-229E) はヒトに鼻風邪を引き起こす。HCoV-229E は 1966 年に初めて報告された株であり、当時の分離株が ATCC 株 (VR-740) として利用されている。我々は 2004 年に仙台市、2008 年に新潟市において HCoV-229E の臨床分離株を得た。そこでこれらの臨床分離株について、ATCC 株である VR-740 との比較解析を中和試験によって行った。VR-740 は抗 VR-740 血清で中和されるが抗仙台株血清では中和されず、仙台株および新潟株は抗仙台株血清で中和されるが抗 VR-740 血清で中和されないことが明らかとなった。またこの違いは S 蛋白質の S1 サブユニットに依存している事が明らかとなった。次に健康な小児および成人ボランティアから得られたヒト血清を用いて中和試験を行ったところ、小児のほうが仙台株に対して、成人のほうが VR-740 に対して陽性が高いことがわかった。従って現在国内で流行している HCoV-229E は ATCC 株の VR-740 とは異なる抗原性をもち、小児が VR-740 よりも仙台株およびその近縁株に対して感染機会が高い事が示唆された。また 2 種類の抗原性の異なる HCoV-229E が同時に存在し、それぞれが別の機会に感染する可能性が示され、これが HCoV-229E の再感染が起こる原因である可能性が示唆された。[白戸憲也、松山州徳]

4. 風邪の病原体、ヒトコロナウイルス 229E の細胞内侵入機構について

ヒトコロナウイルス 229E は細胞侵入にエンドソーム内に存在するカテプシン L を利用することがわかっているが、最近分離された臨床分離 229E 株はカテプシン感受性が低く、一方 1966 年に分離された ATCC 株はカテプシン感受性が高いことがわかった。この原因を明らかにするために、S

タンパクに変異を導入し、VSV シュードタイプを用いて細胞侵入効果、及びプロテアーゼ阻害剤による細胞侵入阻止効果を調べた結果、S タンパクの複数の変異が、カテプシン感受性に影響をおよぼすことが明らかになった。これらの変異は S タンパクの構造変化の時、カテプシン感受性部位に影響を与えると予想される。本研究はヒトの間に蔓延しているコロナウイルスの近年の機能変化を解析する研究である。[白戸憲也、川瀬みゆき、松山州徳]

5. 急性呼吸器ウイルス (パラインフルエンザ、センダイウイルス) の病原性発現機構の解析

膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 は、複数の呼吸器ウイルスを活性化することが報告されている。小児呼吸器感染症の重要な原因の一つであるヒトパラインフルエンザウイルス (HPIV) の解析、加えてマウスパラインフルエンザウイルス (センダイウイルス: SeV) 感染における TMPRSS2 の影響を検討した。HPIV1⁴ 型及び SeV は、trypsin 非存在下で、Vero 細胞では plaque を形成せず、ウイルスの増殖も確認できなかった。これに対し、TMPRSS2 発現 Vero (Vero/TMPRSS2) 細胞では明瞭な plaque を形成し、上清中のウイルス感染価は経時的に上昇した。感染 Vero/TMPRSS2 細胞からは F 蛋白質の開裂産物である F1 が検出された。以上の結果から、HPIV1⁴ 型及び SeV も TMPRSS2 によって活性化されることが明らかとなった。TMPRSS2 の基質となるウイルス膜蛋白質の開裂部位におけるアミノ酸配列を比較したところ、P1³ 位の配列 (QSR↓) が高度に保存されていることがわかった。そこで、遺伝子操作系を用いて、この部位に変異を導入した SeV 変異株を作出した。また、TMPRSS2 ノックアウトマウスを作製した。今後は、これら SeV 変異株と TMPRSS2 ノックアウトマウスを用いた解析により、呼吸器ウイルスの病原性発現における TMPRSS2 の重要性を明らかにしていく予定である。[安部昌子、酒井宏治、白戸憲也、松山州徳、川瀬みゆき、田原舞乃、*加納和彦、*木村博一、*野田雅博、**水田克己、***網康至、竹田誠: *感染症情報センター、**山形県衛生研究所、***動物管理室]

サーベイランス業務

1. 平成 24 年度感染症流行予測調査における風疹感受性調査のため、標準血清 (HI 抗体陽性血清並びに陰性血

ウイルス第三部

清)を用意し、感染症情報センターを通じて配布した。

また、平成22年度に得られた成績をまとめ報告した。

[大槻紀之、感染症情報センター、森 嘉生]

品質管理に関する業務

1. 麻しんワクチン中間段階3ロット、風しんワクチン中間段階1ロット、おたふくかぜワクチン中間段階3ロット、乾燥弱毒生麻しんワクチン小分け製品5ロット、乾燥弱毒生風しんワクチン小分け製品4ロット、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチン46ロット、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン小分け製品15ロットの検定を行った [染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、駒瀬勝啓、大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生、久保田耐、木所稔、加藤篤、白戸憲也、荻野利夫、竹田誠]
2. 人免疫グロブリン製剤175ロットの検定(麻疹抗体測定試験)を行った。 [關文緒、酒井宏治、駒瀬勝啓、竹田誠]
3. PHA用標準抗麻しん血清(非修飾用)を5ヵ所、PHA用標準抗麻しん血清(修飾用)を1ヵ所に配布した。 [關文緒、駒瀬勝啓]
4. インターフェロン製剤4ロット(peg α -2b $_1$ ロット、 α Lys $_1$ ロット、rec β -1b $_1$ ロット、天然型 β $_1$ ロット)の収去検査を行った。 [安部昌子、松山州徳]

レファレンス業務

1. 麻疹の行政検査2件、および依頼検査2件を実施した [染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、駒瀬勝啓]
2. 7ヵ所の地方衛生研究所にVero/hSLAM細胞を配布した。 [關文緒、藤井薫、駒瀬勝啓]
3. 77ヵ所の地方衛生研究所に麻疹ウイルス検出用のRT-PCR用陽性対照を配布した。 [染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、駒瀬勝啓]
4. 風疹および先天性風疹症候群の病原体検出マニュアルを改訂した。 [大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生]
5. 全国の地方衛生研究所に風疹ウイルス遺伝子検査に用いる陽性対照RNAを配布した。 [大槻紀之、岡本貴

世子、坂田真史、森嘉生]

6. 風疹の行政検査2件および依頼検査8件を実施した。

[大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生]

7. 2件のムンプスの依頼検査を実施した。 [木所稔]

国際協力業務

1. Consultation on measles elimination and hepatitis B control (2012年4月18~20日:フィリピン、マニラ市)に参加し、西太平洋地域各国の麻疹、風疹、B型肝炎の発生状況、対策の進捗、今後の行動計画について協議した。 [竹田誠]
2. 10th Global measles and rubella laboratory network meeting (2011年6月25~27日:スイス、ジュネーブ)に参加し、日本の麻疹ウイルス、風疹ウイルスの分子疫学についての発表を行うとともに、診断法、検体輸送法、精度管理等に関して議論した。 [駒瀬勝啓、竹田誠]
3. 中華人民共和国「国家級公衆衛生政策計画管理プロジェクト」予防接種事業セミナー(2012年8月15~16日:中国、北京)に参加し日本の麻疹対策の現状と課題について講演を行った。 [竹田誠]
4. 21st Meeting of the Technical Advisory Group on Immunization and Vaccine Preventable Diseases in the Western Pacific Region (2012年8月21~23日:フィリピン、マニラ)に参加し、西太平洋地域各国の麻疹、風疹等のワクチン予防可能疾患の発生状況、対策の進捗、今後の行動計画について協議した。 [竹田誠]
5. (独)国際協力機構の依頼で、中華人民共和国・国家級公衆衛生政策計画管理プロジェクトに短期派遣専門家として参加し、安徽省と海南省の省レベル研究所の麻疹風疹実験室のレビューを行った。 [駒瀬勝啓] (2012年8月~9月)
6. 2nd meeting of the SAGE working group on measles and rubella (2012年9月20~21日、米国、ワシントンD.C.)に参加し、世界の麻疹風疹対策について討議した。 [竹田誠]
7. Osong Symposium on Infectious Diseases (OSID2012) (2012年9月25~26日、韓国、オソン)に参加して、

ウイルス第三部

麻疹ウイルスの抗原性について発表するとともに、インフルエンザウイルス等の感染症について討議した。

[竹田誠]

8. ベトナムハノイのNIHEを訪問し、麻疹ウイルス、風疹ウイルスの遺伝子解析法について研修し、共同研究について検討した。[駒瀬勝啓] (2012年10月)
9. WPROが主催した5th Regional Hands-on Training Workshop on the Laboratory Diagnosis of Measles and Rubella Focusing on Molecular Diagnosis(2012年10月、中国、香港)にテンポラリーアドバイザーとして参加し、WPRO地域の研修生に研修を行った。[駒瀬勝啓]
10. アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの促進と共同研究体制の強化を目的に、急性呼吸器ウイルス全般の高感受性細胞の樹立を行なっている。H24年11月21日に行われた、日中協同研究発表会に参加し、中国担当者との意見交換を行った。[松山州徳、竹田誠]
11. 来日した韓国KNIHのDr. KimとDr. Yangにムンプスウイルスのリバースジェネティクス法及び日本国内でのムンプスウイルスの流行状況についてレクチャーを行うとともに韓国におけるムンプスウイルスの流行状況について情報交換を行った。(2012年12月)
[木所 稔]
12. 4th Meeting on Vaccine preventable diseases laboratory networks in the Western Pacific Region (2013年3月11~15日: フィリピン、マニラ)に参加し、日本の麻疹、風疹の排除状況の進捗について報告し、検査診断法について協議した。[駒瀬勝啓、森嘉生、竹田誠]

研修業務

1. 「平成24年度短期研修 新興再興感染症技術研修」コースにおいて、「発疹ウイルス総論-麻疹ウイルスについて-」について講義を行った。[竹田誠] 2012年10月5日
2. 「平成24年度医師卒後研修」において、「麻疹、風疹等について」の講義を行った。[竹田誠] 2012年10月25日

3. JICA「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」コースにおいて、アジア、アフリカ、中東等の研修生8名に麻疹抗体測定法、PCR法の実習を行った。[染谷健二、關文緒、酒井宏治、中津祐一郎、田原舞乃、藤井薫、駒瀬勝啓] 2013年1月-2月
8. JICA 集団研修「ポリオを含むワクチン予防可能疾患の世界的制御のための実験室診断技術」コースにおいて、アジアおよびアフリカ諸国の研修生9名に風疹検出RT-PCR法およびRT-LAMP法の実習を行った。[大槻紀之、岡本貴世子、坂田真史、森嘉生] 2013年1-2月
9. 平成24年度 検定・検査教育講習会 第三回継続者向け講習会で「疫学とワクチン施策と検定の連鎖」について講義をおこなった。[森嘉生] 2012年12月

発表業績一覧

I. 誌上発表

欧文発表

1. Pratakpiriya W*, Seki F*, Otsuki N, Sakai K, Fukuhara H, Katamoto H, Hirai T, Maenaka K, Techangamsuwan S, Lan NT, Takeda M, Yamaguchi R. (* these authors equally contributed to this work) Nectin4 is an epithelial cell receptor for canine distemper virus and involved in neurovirulence. J Virol. 86(18):10207-10, 2012
2. Sakai K, Nagata N, Ami Y, Seki F, Suzuki Y, Iwata-Yoshikawa N, Suzuki T, Fukushi S, Mizutani T, Yoshikawa T, Otsuki N, Kurane I, Komase K, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Takeda M, Morikawa S. Lethal canine distemper virus outbreak in cynomolgus monkeys in Japan in 2008. Journal of Virology, 87, 1105-1114. 2013
3. Sakai K, Yoshikawa T, Seki F, Fukushi S, Tahara M, Nagata N, Ami Y, Mizutani T, Kurane I, Yamaguchi R, Hasegawa H, Saijo M, Komase K, Morikawa S, Takeda M. (2013) Canine distemper virus associated with a lethal outbreak in monkeys can readily adapt to use human receptors. J Virol. 87:7170-5.
4. Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma XM, He JL, Xu ST, Fukuhara H, Sakai K, Komase K, Rota PA, Plemper RK,

- Maenaka K and Takeda M. Functional and Structural Characterization of Neutralizing Epitopes of Measles Virus Hemagglutinin Protein. *J Virol.* 87(1):666-675, 2013
5. Tahara M, Ohno S, Sakai K, Ito Y, Fukuhara H, Komase K, Brindley MA, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, and Takeda M. The Receptor-binding Site of the Measles Virus Hemagglutinin Protein Itself Constitutes a Conserved Neutralizing Epitope. *J Virol.* 87:3583-6. 2013
 6. Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Iwasaki M, Yanagi Y, Komase K, Takeda M. (2013) Intracellular transport of the measles virus ribonucleoprotein complex is mediated by Rab11A-positive recycling endosomes and drives virus release from the apical membrane of polarized epithelial cells. *J Virol.* 87:4683-93.
 7. Otsuki N, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kubota T, Nakatsu Y, Chen S, Fukuhara H, Maenaka K, Yamaguchi R, Kuroda M, Takeda M. Canine distemper virus with the intact C protein has the potential to replicate in human epithelial cells by using human nectin4 as a receptor. *Virology* 2013; 435:485-492
 8. Shirato K, Maeda K, Tsuda S, Suzuki K, Watanabe S, Shimoda H, Ueda N, Iha K, Taniguchi S, Kyuwa S, Endoh D, Matsuyama S, Kurane I, Saijo M, Morikawa S, Yoshikawa Y, Akashi H, Mizutani T. (2012). Detection of bat coronaviruses from *Miniopterus fuliginosus* in Japan. *Virus Genes.* 44(1):40-44
 9. Shirato K, Ujike M, Kawase M, and Matsuyama S. (2012). Increased replication of respiratory syncytial virus in the presence of cytokeratin 8 and 18. *J Med Virol.* 84(2):365-370
 10. Shirato K, Kawase M, Watanabe O, Hirokawa C, Matsuyama S, Nishimura H, Taguchi F. (2012). Differences in neutralizing antigenicity between laboratory and clinical isolates of HCoV-229E isolated in Japan in 2004-2008 depend on the S1 region sequence of the spike protein. *J Gen Virol.* 93(9):1908-17.
 11. Kawase M, Shirato K, van der Hoek L, Taguchi F, Matsuyama S. (2012). Simultaneous treatment of human bronchial epithelial cells with serine and cysteine protease inhibitors prevents severe acute respiratory syndrome coronavirus entry. *J Virol.* 86(12):6537-45.
 12. Brindley MA, Takeda M, Plattet P, Plemper RK. (2012) Triggering the measles virus membrane fusion machinery. *Proc Natl Acad Sci U. S. A.* 109:E3018-27.
 13. Ito M, Iwasaki M, Takeda M, Nakamura T, Yanagi Y, Ohno S. (2013) Measles virus non-structural C protein modulates viral RNA polymerase activity by interacting with a host protein SHCBP1. *J Virol.* 2013 Jun 26 [Epub ahead of print]
 14. Mitsuki YY, Terahara K, Shibusawa K, Yamamoto T, Tsuchiya T, Mizukoshi F, Ishige M, Okada S, Kobayashi K, Morikawa Y, Nakayama T, Takeda M, Yanagi Y, Tsunetsugu-Yokota Y. (2012) HIV-1 Infection Ex Vivo Accelerates Measles Virus Infection by Upregulating Signaling Lymphocytic Activation Molecule (SLAM) in CD4+ T Cells. *J Virol.* 86. 7227-34.
 15. Saitoh M, Takeda M, Gotoh K, Takeuchi F, Sekizuka T, Kuroda M, Mizuta K, Ryo A, Tanaka R, Ishii H, Takada H, Kozawa K, Yoshida A, Noda M, Okabe N, Kimura H. (2012) Molecular evolution of hemagglutinin (H) gene in measles virus genotypes D3, D5, D9, and H1. *PLoS One.* 7:e50660.
 16. Nakayama T, Sawada A, Kubo H, Kaida A, Tanaka T, Shigemoto N, Komase K, Takeda M. Simple method to differentiate measles vaccine from wild-type strains using loop - mediated isothermal amplification (LAMP). *Microbiol immunol.* 57(3): 246-51, 2013.
 17. Watanabe K, Watanabe K, Tazawa T, Kon M, Tamara T, Komase K. Imported cases of measles in Niigata, Japan in 2011. *Jpn J Infect Dis.* 65(3) 268-70, 2012
 18. Tran DN, Pham NT, Tran TT, Khamrin P, Thongprachum A, Komase K, Hayakawa Y, Mizuguchi M, Ushijima H. Phylogenetic analysis of rubella viruses in Viet Nam during 2009-2010. *J Med Virol.* 84(4):705-10, 2012

19. Ohkura T, Kikuchi Y, Kono N, Itamura S, Komase K, Momose F, Morikawa Y. Epitope mapping of neutralizing monoclonal antibody in avian influenza A H5N1 virus hemagglutinin. *Biochem Biophys Res Commun.* 3; 418(1): 38-43, 2012
20. Tripathi LP, Kambara H, Moriishi K, Morita E, Abe T, Mori Y, Chen YA, Matsuura Y, Mizuguchi K. Proteomic analysis of hepatitis C virus (HCV) core protein transfection and host regulator PA28gamma knockout in HCV pathogenesis: a network-based study. *J Proteome Res.* 2012; 11(7):3664-3679.
21. Oikawa N., Okumura A., Oyama S., Baba H. Shimizu T., Kato A. A 15-month old boy with reduced consciousness and convulsion. 53:276-279 (2012)
22. Ujike M, Huang C, Shirato K, Matsuyama S, Makino S, Taguchi F. (2012). Two palmitylated cysteine residues of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike (S) protein are critical for S incorporation into virus-like particles, but not for M-S co-localization. *J Gen Virol.* 93(4):823-8.
23. Kotani O, Shirato K, Nagata N, Ikeda H, Takahashi K, and Taguchi F. (2013). Neuropathogenesis of a mouse-adapted porcine epidemic 1 diarrhea virus infection in suckling mice. *J. Gen Virol.* 94:831-6
7. 駒瀬勝啓, 染谷健二, 竹田誠, 日本における麻疹ウイルス流行株の変遷 2009-2011、病原体検出情報 34(2):36-7. (2013)
8. 染谷健二, 駒瀬勝啓, 竹田誠, 2012年の海外の麻疹情報、病原体検出情報 34(2):24-5. (2013)
9. 關文緒, 竹田誠, 麻疹のウイルス型、週刊日本医事新報 4613:58-59 (2012)
10. 關文緒, 竹田誠, モルビリウイルス：麻疹ウイルス、イヌジステンパーウイルスなど、ウイルス 62(2):175-182 (2012)
11. 酒井宏治, 水谷哲也 「原因不明疾患へのRDV法の適用」臨床とウイルス, 40, 192-200. 2012
12. 森 嘉生.「風疹ウイルスと遺伝子型解析」p1165-1172, 小児科, 2012.
13. 白戸憲也 松山州徳 2012年新型コロナウイルス(HCoV-EMC)重症肺炎の発生について 病原微生物検出情報 33(11): 303-304 (2012)
14. 塚田敬子, 北川和寛, 門馬直太, 二本松久子, 金成篤子, 佐藤弘子, 泉 隆子, 佐々木瞳, 佐藤明絵, 鈴木広幸, 石井修, 遠藤幸男, 駒瀬勝啓, 福島県における麻疹患者発生について、病原体検出情報 33: 242-44. (2012)
15. 安井善宏, 小林真一, 山下照夫, 平松礼司, 皆川洋子, 森嘉生 麻疹疑い症例からの風疹ウイルス検出と遺伝子解析-愛知県 病原微生物検出情報、33(6):167-168, (2012)

和文発表

1. 駒瀬勝啓, 麻疹ワクチン、風疹ワクチンの品質管理、臨床とウイルス 40(5):334-341, 2012.
2. 駒瀬勝啓, 竹田誠, 麻疹、風疹、ムンプスの検査診断の現状、臨床と微生物 39(6): 656-662, 2012
3. 駒瀬勝啓 Q&A 麻疹検査診断法 日本医事新報 4605: 57-59. 2012
4. 駒瀬勝啓, 竹田誠 ヨーロッパの麻疹の状況と今後の日本の課題、病原微生物検出情報 33(2): 29-30 (2012)
5. 駒瀬勝啓 麻疹排除の進捗と麻疹輸入例の増加 -麻疹排除に向けた今後の課題- 小児科 金原出版 53(1):105-112 (2012)
6. 駒瀬勝啓 麻疹、風疹、ムンプス、臨床と微生物 近代出版 38(6) 655-660 (2011)

II. 学会発表

国際学会

1. Takeda M, Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Fukuhara H, Komase K, Yanagi Y, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K. Structural and functional constraints on the measles virus hemagglutinin protein prevent escape from neutralization The 34th Naito Conference 2012 Oct 16-19
2. Sakai K, Seki F, Tahara M, Otsuki N, Ami Y, Saijo M, Yamaguchi R, Komase K, Takeda M and Morikawa S. Canine distemper virus intrinsically uses monkey receptors and readily adapts to use human

- receptors as well. 15th International Conference on Emerging Infectious Diseases (EID) in the Pacific Rim. Singapore, march, 2013.
3. Tahara M, Miura Y, Kurita R, Ryo A, Tani K, and Takeda M Generation of a novel non-transmissible and cytosol-replicating RNA virus vector that encodes five iPS cell-inducing genes and a reporter gene. International Society for Stem Cell Research 2012 June 13-16, Yokohama, Japan
 4. Tahara M, Miura Y, Kurita R, Ryo A, Tani K, and Takeda M A novel non-transmissible measles virus vector with five iPS cell-inducing genes and a reporter gene. American society for virology 31th annual meeting 2012 July 21-25, Madison, USA
 5. Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma XM, He JL, Xu ST, Fukuhara H, Sakai K, Ohno S, Komase K, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, and Takeda M. A structural and biochemical basis for the single serotype nature of MV. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Hyogo, Japan, 2012 Sept. 11-14.
 6. Tahara M, Ito Y, Brindley MA, Ma XM, He JL, Xu ST, Fukuhara H, Sakai K, Ohno S, Komase K, Rota PA, Plemper RK, Maenaka K, and Takeda M. Virological, Structural and Molecular Bases for the Unchanged Antigenicity of Measles Virus. Osong Symposium on Infectious Disease 2012 Sept. 25-26
 7. Nakatsu Y, Ma X, Seki F, Suzuki T, Iwasaki M, Yanagi Y, Komase K, Takeda M. Measles virus utilizes the cellular microtubule network and specific endosomes for transport of the RNP complex, matrix protein and H glycoprotein. American society for virology 31st Annual meeting, USA, 2012
 8. Mori Y, Sakata M, Okamoto K, Otsuki N, Takeda M. Rubella virus undergoes genome synthesis at the plasma membrane with induction of filopodia. 34th Naito Conference. Sapporo, Oct 2012
 9. Otsuki N, Sekizuka T, Seki F, Sakai K, Kubota T, Nakatsu Y, Chen S, Fukuhara H, Maenaka K, Yamaguchi R, Kuroda M, Takeda M. Canine distemper virus possesses an ability to use human nectin4 as a receptor. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity Sept 2012
 10. Sakata M, Okamoto K, Otsuki N, Anraku M, Takeda M, Mori Y. N-terminal hydrophobic amino acid residues of the capsid protein are critical for co-localization with the p150 protein and production of rubella virus. The 11th Awaji international forum on infection and immunity, Sep 2012
 11. Abe M, Kato A, Tahara M, Sakai K, Kanou K, Shirato K, Noda M, Kimura H, Ami Y, Matsuyama S, Mizuta K, Takeda M. Importance of the P3 glutamine residue for proteolytic activation of the fusion protein of parainfluenza viruses by TMPRSS2. The 11th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Hyogo, Japan, 2012 Sept. 11-14.
 12. Abe M, Kato A, Sakai K, Kanou K, Mizuta K, Shirato K, Matsuyama S, Takeda M. Proteolytic activation of the fusion protein of human and murine parainfluenza viruses by the type II transmembrane serine protease TMPRSS2. American society for virology 31th annual meeting 2012 July 21-25, Madison, USA
 13. Khamla Lerdsaway K. Thammavongsa P. Ounnaphone B. Khamphongphanh V. Somoulay P. Vongphrachanh K. Komase K. Yamamoto S. Archkhawong P. Ketmayoon M. Phengxay T. Chanthapaseuth K. Feldon J. Denny H. Lewis. Rubella Susceptibility Study among Women of Child-bearing Age - Vientiane Capital, Lao PDR, 2010, 15th International Congress on Infectious Diseases, Bangkok, 2012 June 13-16.
- 国内学会
1. 竹田誠 (基調講演) 2012 年麻しんの現状と実験室の役割. 第53回日本臨床ウイルス学会、大阪、2012年

ウイルス第三部

- 6月16-17日。
2. 駒瀬勝啓、高崎智彦、竹田誠 デング熱患者における麻疹 IgM 抗体の検出、第 86 回日本感染症学会学術講演会 長崎 2012 年 4 月 24 日～25 日
 3. 駒瀬勝啓、秋吉京子、伊藤正寛、麻疹 IgM 抗体価測定による麻疹検査診断-偽陽性と感度の関係-、第 53 回日本臨床ウイルス学会、堺 2012 年 6 月 16 日～17 日
 4. 駒瀬勝啓 (シンポジウム)、麻疹の疫学、実験室検査診断、衛生微生物技術協議会第 33 回研究会 横浜 2012 年 6 月 28 日～29 日
 5. 駒瀬勝啓 (シンポジウム)、麻疹、風疹ウイルスと検査診断について、第 26 回公衆衛生情報研究協議会、研究会 沖縄 2013 年 1 月 24 日～25 日
 6. 駒瀬勝啓 (講演)、麻疹、風疹発生状況、ウイルス検査の概要と精度管理、平成 24 年度地方衛生研究所東海、北陸ブロック微生物部門専門家会議 名古屋 2012 年 10 月 18 日～19 日
 7. 關文緒、Pratakpiriya Watanyoo、大槻紀之、酒井宏治、福原秀雄、前仲勝実、山口良二、竹田誠、イヌジステンパーウイルスの上皮および中枢神経感染におけるイヌ Nectin4 の利用: 第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012 年 11 月
 8. 酒井宏治、關文緒、網康至、福士秀悦、西條政幸、森川茂、山口良二、駒瀬勝啓、竹田誠、「カニクイザルで致死感染を起こしたジステンパーウイルスのサル SLAM ならびに Nectin4 の効率的な利用」、第 154 回日本獣医学会学術集会、盛岡、2012 年 9 月
 9. 酒井宏治、關文緒、網康至、田原舞乃、中津祐一郎、大槻紀之、福原秀雄、福士秀悦、吉河智城、西條政幸、森川茂、前仲勝実、山口良二、駒瀬勝啓、竹田誠 カニクイザルで致死感染を起こしたジステンパーウイルスのサルレセプターの効率的な利用: ジステンパーウイルスはヒトへの脅威となり得るのか? 第 60 回日本ウイルス学会学術集会 2012 年 11 月
 10. 酒井宏治、「犬ジステンパーウイルスの霊長類レセプターの利用について」、2nd Negative Strand Virus-Japan Symposium、沖縄、2013 年 1 月
 11. 田原舞乃、Melinda A. Brindley、福原秀雄、酒井宏治、大野真治、駒瀬勝啓、Paul A. Rota、Richard K. Plemper、前仲勝実、竹田誠 麻疹ウイルス単一血清型決定の分子基盤 第60回日本ウイルス学会学術集会2012年11月
 12. 田原舞乃、駒瀬勝啓、竹田誠、麻疹ウイルス H 蛋白質全エピトープの詳細な解析、第 16 回日本ワクチン学会学術集会 横浜 2012 年 11 月 17 日～18 日
 13. Tahara M, Miura Y, Kurita R, Ryo A, Tani K, and Takeda M. SIX IN A SINGLE PARTICLE: NOVEL NON-TRANSMISSIBLE MEASLES VIRUS VECTOR FOR DELIVERY OF SIX GENES ALL TOGETHER 第 18 回日本遺伝子治療学会 熊本 2012年6月
 14. 中津祐一郎、鈴木忠樹、駒瀬勝啓、竹田誠、極性上皮細胞におけるリサイクリングエンドソーム経路を利用した麻疹ウイルスRNP複合体の細胞膜への輸送と感染性ウイルス粒子の産生、第60回日本ウイルス学会、大阪、2012
 15. 大槻紀之、関塚剛史、關文緒、酒井宏治、久保田耐、福原秀雄、前仲勝実、山口良二、黒田誠、竹田誠 野外イヌジステンパーウイルスはヒトNectin4を受容体として利用できる。第60回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012年11月13-15日
 16. 岡本貴世子、大槻紀之、坂田真史、森 嘉生、竹田誠。風疹ウイルスワクチン株の温度感受性とモルモットにおける抗体誘導能の関連性。第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012 年 11 月 13-15 日
 17. 坂田真史、岡本貴世子、大槻紀之、安楽正輝、竹田誠、森 嘉生。風疹ウイルス C 蛋白質と p150 蛋白質の共局在がウイルス産生に及ぼす影響。第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月
 18. 木所 稔、齋加志津子、網 康至、須崎百合子、加藤 篤、竹田 誠 : リバースジェネティクスによって作製したムンプスウイルスの病原性復帰と遺伝的多様性との関連性に関する研究、第 60 回日本ウイルス学会総会、大阪、2012 年 11 月
 19. 白戸憲也、川瀬みゆき、渡邊王志、広川智香、松山州徳、西村秀一、田口文広「2004 年および 2008 年に分離されたヒトコロナウイルス (HCoV) 229E の国内分

ウイルス第三部

- 離株と ATCC 株との間の抗原性の違いについて」第 60 回日本ウイルス学会学術集会 2012 年 11 月 (大阪)
20. 安部晶子、加藤篤、田原舞乃、酒井宏治、加納和彦、白戸憲也、野田雅博、木村博一、網康至、松山州徳、水田克巳、竹田誠 膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 はパラインフルエンザウイルス F 蛋白を活性化し増殖を促進する 第 60 回日本ウイルス学会学術集会 2012 年 11 月
 21. 江角 真理子、田井 雄飛、山口 裕美、中島 聡美、竹田 誠、脇田 隆宇 細胞膜セリンプロテアーゼが C 型肝炎ウイルス感染感受性に関与する。第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012 年 11 月 13-15 日
 22. 伊藤 美菜子、岩崎 正治、竹田 誠、中村 崇規、柳 雄介、大野 真治 麻疹ウイルスの複製に関わる新規宿主因子の同定。第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、2012 年 11 月 13-15 日
 23. 中山哲夫、改田厚、駒瀬勝啓、麻疹ウイルス野生流行株とワクチン株との鑑別、第 53 回日本臨床ウイルス学会、堺 2012 年 6 月 16 日～17 日
 24. 渡辺正博、駒瀬勝啓、庵原俊昭、点状出血で発症したパルボウイルス感染症の臨床とウイルス学的検討～麻疹 IgM 抗体との交叉反応について～、第 53 回日本臨床ウイルス学会、堺 2012 年 6 月 16 日～17 日
 25. 内野 清子、三好 龍也、森 嘉生、駒瀬勝啓、田中 智之、いわゆる臨床検体三点セットを用いた風疹ウイルス検出状況：第 60 回ウイルス学会学術集会 大阪、2012 年 11 月 13 日～15 日
 26. 秋山今日子、西尾陽平、田丸精治、長尾裕美子、下田宙、酒井宏治、永田典代、森川茂、下島昌幸、前田健、「自然宿主を用いた犬ジステンパーウイルス感染実験系の構築」、第 154 回日本獣医学会学術集会、盛岡、2012 年 9 月
 27. 加藤大志、岡本徹、福原崇介、寒原裕登、森田英嗣、森 嘉生、神谷 亘、松浦善治。日本脳炎ウイルスコア蛋白質による Stress Granule 抑制機構の解明。第 60 回日本ウイルス学会学術集会、2012 年 11 月
 28. 新妻隆広、木所 稔：授乳婦に対するムンプスワクチン接種：接種後の母乳におけるワクチンウイルス検出、第 16 回日本ワクチン学会総会、横浜、2012 年 11 月
 29. 加藤 篤、永田志保、前寺知弥、木所 稔、永田典代、竹内 薫、竹田 誠：おたふくかぜ生ワクチン(ミヤハラ株)とその親株の比較、第 16 回日本ワクチン学会総会、横浜、2012 年 11 月
 30. 氏家誠、白戸憲也、松山州徳、田口文広 「SARS-CoV の粒子形成における S 蛋白質の ER retrieval signal の役割について」 第 60 回日本ウイルス学会学術集会 2012 年 11 月 (大阪)
- ### III. その他
1. 竹田誠、第 5 回小児感染症専門医育成フォーラム (東京) 2012 年 7 月 28 日「麻疹制圧、麻疹ウイルス研究の今」
 2. 竹田誠 (原案監修) (学術協力：中津祐一郎、森嘉生、松山州徳) (2012) DVD 目で見える微生物学 vol. 6 ウイルス感染症、医学教育シリーズ、医学映像教育センター
 3. 竹田誠、第 32 回ヒューマンサイエンス基礎研究抗集会 麻疹ウイルスのベクターとしての応用 2012 年 6 月 15 日
 4. 竹田誠、栃木県小児科医会、小山地区医師会講演会 わが国の麻疹風疹対策-麻疹風疹検査診断と注意点 世界の麻疹風疹事情と日本の取り組み 2013 年 2 月 19 日
 5. 竹田誠、第 33 回広島小児アレルギー研究会 麻疹の国内、世界最新事情-流行、ワクチン、研究 2013 年 2 月 21 日
 6. 竹田誠、国立感染症研究所 FETP 講義 ウイルス感染症 (麻疹風疹を中心に) 2013 年 4 月 8 日
 7. 竹田誠 (監修) 知ってほしい麻疹、風疹 Q & A (改訂版) 2013 年 3 月 25 日